

yltransferase – using commercial kits produced by «Diasys» firm (Germany). Determination of the concentration of endotoxin and lipopolysaccharide-binding protein (LBP) was conducted by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) with the «sandwich» principle with the help of ELISA kit from «HyCult Biotechnology» company (Netherlands). Statistical data processing was carried out with the help of Wilcoxon U-test (Mann-Whitney). All biochemical parameters (namely, bilirubin and its fractions, ALT) were significantly higher in all patients compared to the norm, and in I and III groups expression of these changes corresponded to the activity and clinical manifestations of hepatitis C. In II group, these changes were minor. A typical criterion of deterioration and poor prognosis was an increase in the levels of AST and ALT, as well as in levels of enzyme of gamma-glutamyltransferase, indicating heavy necrobiosis of hepatocytes. Bacterial infection is one of the most frequent complications in patients with liver problems. Probably, the most significant changes in III group of patients are associated with this. The amount of endotoxin in HCV in I group was $25,0 \pm 4,9$ EU/ml, while in II group this figure stood at $38,5 \pm 6,7$ EU/ml, and III group – $57,3 \pm 9,3$ EU/ml with the control value at $0,01 \pm 0,07$ EU/ml. It is known that in chronic viral hepatitis the concentration of endotoxin in bloodstream may repeatedly increase primarily due to violation of the detoxifying function of the liver, an increase in the permeability of the intestinal tube, the development of the syndrome of bacterial overgrowth, thus promoting the development of endotoxin aggression. Endotoxin can cause or accelerate immune inflammation through multiple mechanisms and stimulates the production of defensins, which are quite informative markers of the severity of the inflammatory process. Thus, defensin levels in I group increased by 8,1 times ($313,4 \pm 50,1$ ng/ml) with the control at $38,6 \pm 6,9$ ng/ml, while in II group it increased by 2,6 times ($840,5 \pm 69,8$ ng/ml) and in III group – by 4 times ($1282,5 \pm 125,2$ ng/ml) compared to I group of patients. It should be noted that LBP levels correlate with severity of infection in liver. The highest level was observed in III group – a 17,2 times increase ($407,0 \pm 28,8$ ng/ml), while in group I there was a 5.2 times increase ($124,0 \pm 7,9$ ng/ml) and in II group – 12,3 times increase ($291,4 \pm 20,1$ ng/ml) compared to the control value. On the one hand, increasing LVP values may reflect the severity of endotoxemia syndrome, while on the other hand – the activation of antiendotoxic immunity. The level of lipopolysaccharide binding protein increases rapidly in the presence of a bacterial infection that does not exclude its use for quantification of endotoxemia and as a marker of emerging inflammation.

Overall, it is possible to use defensins, endotoxins and lipopolysaccharide binding protein as additional biomarkers of viral and bacterial infections, while endotoxin – as a quantitative marker of dynamics and severity of liver damage at chronic hepatitis C.

Keywords: hepatitis C, defensins, lipopolysaccharide binding protein, endotoxins, lymphocytes, circulating immune complexes.

*Рецензент – проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 05.02.2017 року*

© Грабовська О. І., Скорик О. Д., Шамелашвілі К. Л., Штеменко О. В., Штеменко Н. І.

УДК 546.719+577.125.8+616.006.6

¹Грабовська О. І., ²Скорик О. Д., ³Шамелашвілі К. Л.,
⁴Штеменко О. В., ⁵Штеменко Н. І.

БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРОВІ ЩУРІВ З РЕЗИСТЕНТНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА

¹ДУ «Інститут гастроентерології Національної академії
медичних наук України» (м. Дніпро)

²Дніпропетровський національний університет імені Олеся Гончара
(м. Дніпро)

³ДЗ «Дніпропетровська медична академія МОЗ України» (м. Дніпро)
⁴Український державний хіміко-технологічний університет (м. Дніпро)

⁵Інститут біохімії ім. О. В. Палладіна,
Національна Академія Наук України (м. Київ)

I_d_skorik@mail.ru

Роботу виконано згідно з планом науково-дослідної роботи кафедри біофізики та біохімії Дніпропетровського національного університету імені Олеся Гончара у рамках держбюджетних тем: «Дослідження біологічної активності кластерних сполук ренію з органічними лігандами» (№ державної реє-

страції 0100V005660); «Дослідження механізмів взаємодії сполук Ренію з біомолекулами при діагностиці і корекції патологічних станів» (0104U000960).

Вступ. Звичайна і резистентна до цисплатину карцинома Герена є зручними моделями для дослідження біохімічних особливостей явища хеміорезистентності [14]. У наших попередніх дослідженнях

показано, що застосування ліпосомальної форми цисплатину було набагато ефективним для гальмування резистентної пухлини, ніж звичайної [7]. Також відомо, що введення ліпосомальних препаратів може бути одним із шляхів до подолання резистентності пухлин [14, 19]. Інтенсивність перекисного окиснення ліпідів (ПОЛ) у плазмі крові є загальним показником для визначення рівню оксидативного стресу організму, який може відігравати регуляторну роль і сприяти виникненню та розвитку резистентності до певних цитостатиків [6,25-27,33,46]. Окрім показників інтенсивності ПОЛ дуже важливим є визначення активності антиоксидантних ферментів еритроцитів та оцінка їхньої стійкості, оскільки саме біохімічні характеристики еритроцитів віддзеркалюють рівень гіпоксичного ураження організму за виникнення новоутворення та роблять певний внесок у зниження або підвищення тривалості життя експериментальних тварин [6,8,42-44]. Явище гіперліпідемії – збільшення вмісту ліпідів у плазмі крові з одночасним зменшенням кількості ліпідів в адипоцитах – є також одним з важливих метаболічних маркерів розвитку новоутворень [28-30,32,39]. Нами показано, що введення кластерних сполук Ренію у ліпосомальній формі щурам-пухлиноносцям впливало по-різному на окисний стрес в плазмі крові та еритроцитів щурів звичайної при рості звичайної карциноми Герена та резистентної та було показано, що обидві зловиясні моделі призводять до активації процесів ПОЛ, проте при резистентній вони проходять дещо повільніше [7]. Проте, у цих роботах не вивчався ліпідний склад плазми крові пухлиноносців, склад якого теж є важливим. Оскільки введення кластерних сполук Ренію було ефективним засобом для гальмування звичайної карциноми Герена, особливо із цисплатином (система Реній-Платина) [2-4,10,15,16] було цікавим дослідити вплив цих сполук на розвиток і вищеназвані біохімічні показники резистентної карциноми Герена.

Метою роботи було дослідити вплив введення кластерних сполук Ренію у наноліпосомальній формі окремо та разом з цисплатином на розвиток резистентної карциноми Герена і біохімічні показники еритроцитів щурів-пухлиноносців, та порівняти їх з такими для щурів із звичайною карциною Герена.

Об'єкт і методи дослідження. У роботі досліджувалася сполука – цис-тетрахлоро-ди- μ -(ізобутирато)диреній (III), $\text{cis-Re}_2(i\text{-C}_3\text{H}_7\text{COO})_2\text{Cl}_4 - \text{I}$, яку синтезували за [44]. Ліпосоми, навантажені I та cPt виготовляли за [44]. Експерименти проводили на щурах лінії Вістар із масою тіла 100-150 г, яким перещеплювали підшкірно у ліве стегно звичайну карциному Герена T8 (КГ) та карциному Герена, резистентну до Цисплатину (РКГ) за [22]. Обидва штами карциноми одержано з Інституту експериментальної патології, онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького НАН України. Щурів було поділено на групи по 8 тварин у кожній: інтактні тварини контроль; щури-пухлиноносці зі звичайним штамом карциноми Герена (КГ); щури-пухлиноносці з резистентним штамом карциноми Герена – (РКГ); щури – пухлиноносці КГ, яким вводили I у наноліпосомах – КГ+[I]nl, пухлиноносці РКГ, яким вводили I у наноліпосомах РКГ+[I]nl;

щури-пухлиноносці з КГ, яким вводили систему Реній-Платина – КГ+cPt+[I]nl, щури-пухлиноносці з РКГ, яким вводили систему Реній-Платина РКГ+cPt+[I]nl. Розчин цисплатину вводили внутрішньочеревинно одноразово у дозі 8 мг/кг на 9-у добу після трансплантації пухлини. Кластерні сполуки Ренію у ліпосомальній формі (розміром 50-100 нм) вводили внутрішньочеревинно на 3-у добу після трансплантації ракових клітин десятикратно з інтервалом в 1 добу (протягом 21 доби) в дозі 7 мкмоль/кг [38]. Декапітацію тварин здійснювали під етерним наркозом відповідно до правил «Європейської конвенції захисту хребетних тварин, використаних в експериментальних та інших наукових цілях». Потім збирали кров у пробірки з гепарином, центрифугували 10 хвилин при 3000 g. Досліджували концентрацію ТБК – активних продуктів у плазмі та еритроцитах [1], ступінь перекисного гемолізу еритроцитів [11]. Активність супероксиддисмутази (СОД) і каталази (Кат) еритроцитів визначали за [12,13]. Рівень загальних ліпідів досліджували за реакцією з сульфосфоронованіліновим реактивом із використанням стандартного набору реактивів («Філісіт-Діагностика», Україна). Фарбування мазків здійснювали за методикою [9]. Кількість патологічних форм еритроцитів представлено у відсотках від загальної кількості всіх форм червонокривців. Підрахунок клітин вели у п'яти областях (полях зору) одного мазку. Статистичний аналіз одержаних результатів здійснювали за допомогою варіаційної статистики з використанням стандартного пакета комп'ютерних програм Excel.

Результати дослідження та їх обговорення.

Як показано нашими попередніми дослідженнями, введення щурам-пухлиноносцям із звичайною карциною Герена ліпосомальних форм сполук Ренію призводило до 60% - 90% гальмування пухлини, а введення системи Реній-Платина незалежно від способу, призводило до повного гальмування пухлини [16,42-44]. Введення I у ліпосомальній формі щурам-пухлиноносцям із РКГ не зменшувало об'єм новоутворення (результати не приводяться), а введення системи Реній-Платина призводило майже 100% гальмування пухлини. На **рисунку 1** зображено вагу остаточної ізольованої пухлини за введення водного розчину цисплатину [17] та системи Реній-Платина.

Оскільки цисплатин вводився в цих експериментах в однакових концентраціях, а введення окремо I було неефективним, експеримент з введенням системи демонструє синергійний, або адитивний механізм дії цисплатину та досліджуваної сполуки Ренію.

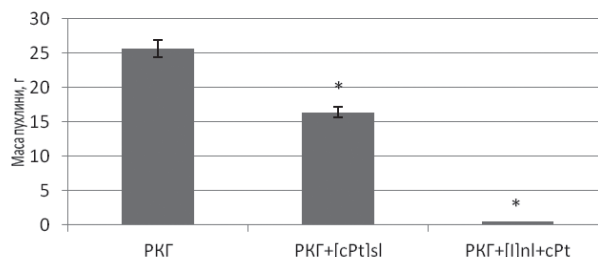


Рис. 1. Маса РКГ за введення розчину цисплатину, I та системи Реній-Платина, г.

Примітка: * – достовірна різниця порівняно з групою з РКГ, $p < 0,05$.

При дослідженні впливу інших речовин на злоякісний ріст звичайного та резистентного штамів карциноми Герена, наприклад, харчова добавка «Грінізація Грін R», яка розроблена в Україні, виявлено, що даний препарат має стабілізуючий вплив на злоякісний ріст резистентного штаму карциноми Герена, найбільш ефективною експериментально встановленою дозою є 136 мг/кг та мав протилежний вплив на злоякісний ріст штаму карциноми Герена, порівняно з резистентним штамом [20,23].

За розвитку КГ рівень гемоглобіну знижується на 33%, а за розвитку РКГ – на 29% у порівнянні з контрольною групою тварин (табл. 1).

Встановлено, що за розвитку КГ рівень гемоглобіну знижується на 33% у порівнянні з контролем, тоді як за розвитку РКГ спостерігалось збільшення його на 21% порівняно з контролем. Розвиток КГ та РКГ призводить до зниження загальної кількості еритроцитів на 33% у порівнянні з контролем. Підвищення патологічних форм еритроцитів у 5 разів відмічено за розвитку КГ та у 3,5 разів за розвитку РКГ порівняно з контролем. Отже, за розвитку КГ спостерігаються більш суттєві порушення стану системи червоної крові у порівнянні з РКГ.

Введення I за розвитку КГ призводило до підвищення рівня гемоглобіну на 45%, що майже відповідало контролю та до зниження на 34% за розвитку РКГ у порівнянні з відповідними групами пухлиноносіїв. Загальна кількість еритроцитів підвищувалася на 47% за розвитку КГ та знижувалася на 12% за розвитку РКГ порівняно з відповідними групами пухлиноносійми. Даний параметр для КГ наблизився до контрольного значення. Спостерігалось зниження рівня патологічних форм еритроцитів у 4 рази за розвитку КГ у порівнянні з групою пухлиноносіїв, однак за розвитку РКГ рівень патологічних форм майже не змінився.

Таким чином, система червоної крові з КГ та РКГ по-різному реагує на введення I – у експериментах з КГ спостерігається поліпшення стану червоної крові, тоді як у експериментах з РКГ спостерігається деяке її погіршення. Це можна пояснити тим, що введення I не впливає на ріст РКГ, тоді як КГ гальмується введенням I на 60% [16].

Введення протипухлинної системи призводило до підвищення рівня гемоглобіну на 53% за розвитку КГ та на 47% за розвитку РКГ у порівнянні з відповідними групами пухлиноносіїв. Слід відмітити, що цей параметр за розвитку КГ наблизився до контрольного значення, проте за розвитку РКГ значно перевищив контрольне значення. За такою формою введення цисплатину та I за розвитку КГ спостерігалось підвищення загальної кількості еритроцитів на 50% у порівнянні з групою пухлиноносіїв, при цьому показник відповідав контрольному значенню. За розвитку РКГ загальна кількість еритроцитів підвищилася на 107% у порівнянні з групою пухлиноносіїв, однак цей параметр значно перевищував контрольне значення. Рівень патологічних форм еритроцитів за розвитку КГ знизився у 6 разів порівняно з групою пухлиноносіїв, а за розвитку РКГ у 4 рази, причому параметри були трохи нижчі контрольного значення.

Таблиця 1.
Концентрація гемоглобіну (Hb, г/л),
кількість еритроцитів ($10^{12}/л$) та патологічні
форми (%)

Група тварин	Hb, г/л	Кількість еритроцитів	
		Загальна ($10^{12}/л$)	Патологічні форми (%)
Контроль	145,53 ± 7,28	6,71 ± 1,6	11,70 ± 2,16
КГ	97,60 ± 4,88 [#]	4,51 ± 1,93 [#]	58,96 ± 4,54 [#]
КГ+[I]nl	141,26 ± 2,06 [*]	6,62 ± 1,04 [*]	14,61 ± 0,83 [*]
КГ+cPt+[I]nl	148,87 ± 7,44 ^{*#}	6,75 ± 1,02 ^{*#}	10,25 ± 2,54 ^{*#}
РКГ	175,96 ± 11,85 [#]	4,52 ± 1,17	40,50 ± 7,05
РКГ+[I]nl	116,22 ± 14,63	3,99 ± 1,34	36,86 ± 10,45
РКГ+cPt+[I]nl	192,81 ± 15,31	9,35 ± 0,40 [#]	10,11 ± 2,12 [#]

Примітка: [#] – вірогідна різниця порівняно з контрольною групою, ($p < 0,05$); ^{*} – вірогідна різниця порівняно з групою КГ, ($p < 0,05$).

Отже, система Реній-Платина позитивно впливає на систему червоної крові щурів-пухлиноносіїв за розвитку КГ і РКГ. При цьому спостерігається нормалізація усіх показників червоної крові для КГ і значне поліпшення стану червоної крові щурів-пухлиноносіїв з РКГ, яке перевищує навіть контрольні значення. Показаний нами позитивний вплив системи Реній-Платина на стан червоної крові щурів-пухлиноносіїв може бути пояснений запропонованою нами нещодавно вірогідною схемою зв'язку між станом нирок, синтезом еритропоєтину та еритро-нормобластичними властивостями кластерних сполук Ренію щодо кісткового мозку, у кому вирішальну роль відіграють унікальні антиоксидантні властивості почверного зв'язку між двома атомами Ренію [3].

Розвиток обох пухлинних моделей призводить до підвищення ТБК – активних продуктів в еритроцитах 4,5 та 3,2 рази порівняно з інтактними тваринами (табл. 2).

Підвищення інтенсивності перекисного гемолізу спостерігалось як при розвитку КГ у 7,8 разів, тоді як при розвитку РКГ – у 2,6 разів. Отже, за розвитку звичайного штаму КГ процеси ПОЛ проходять більш інтенсивно в організмі пухлиноносія, ніж при розвитку РКГ.

Введення I сприяло зниженню ТБК-активних продуктів в плазмі при розвитку КГ у 3 рази, а при РКГ у 1,6 разів у порівнянні з групами пухлиноносіїв. Рівень ТБК-активних продуктів в еритроцитах крові щурів знижувався, як при звичайному, так і при резистентному штамі у 2 та 1,1 рази відповідно. Відсоток перекисного гемолізу еритроцитів знижувався за розвитку КГ у 2,2 рази, а за розвитку РКГ у 1,8 разів порівняно з відповідними групами щурів-пухлиноносіїв. Таким чином, введення I по-різному впливало на зниження окисного стресу за розвитку обох експериментальних моделей: більш активно знижувалися показники при розвитку звичайного штаму.

Введення системи призводило до зниження рівня ТБК-активних сполук у 5,5 разів за розвитку КГ та 2 рази за розвитку РКГ. Рівень ТБК – активних продуктів в еритроцитах змінювався: при розвитку звичайного штаму підвищувався у 1,3 рази, тоді як при резистентному знижувався у 2,2 рази у порівнянні з тваринами-пухлиноносійми. Ступінь перекисного

гемолізу знижувався у обох експериментальних моделях у 3 рази порівняно з пухлиноносійми. Отже, за введення системи Реній-Платина знижується рівень інтенсивності перекисного окиснення ліпідів як при розвитку КГ, так і РКГ. Даний антирадикальний вплив може бути пояснений наявністю почверного зв'язку Re-Re, який є пасткою для радикалів [16].

Активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів у вищеписаному експерименті представлено у **таблиці 3**.

Виявлено, що при розвитку РКГ активність антиоксидантних ферментів у крові щурів, підвищується (СОД у 5, Кат у 1,3), а активності ГП зменшується у 1,6 разів, порівняно з контрольною групою. Натомість, розвиток КГ призводив до зниження активності СОД та ГП на 14% та 51% відповідно, активність Кат не змінювалась. Отже, ферментативна антиоксидантна система крові щурів-пухлиноносій за розвитку КГ і РКГ працює по-різному: у групах щурів з КГ вона пригнічується, а у РКГ, навпаки, активується. Вірогідно, активація антиоксидантної системи робить певний внесок у феномен резистентності. Введення цисплатину і кластерних сполук Ренію призводило здебільшого до однакових змін усіх досліджуваних ферментів АОС як при розвитку РКГ, так і КГ, за виключенням СОД. За використання цитостатиків, якими є цисплатин, кластерні сполуки Ренію і система Реній-Платина [42-44], нами знайдено 10-14-кратне зростання активності цього ферменту у крові щурів з перещепленою КГ у порівнянні з контролем, яке не спостерігалось раніше при вивченні параметрів окислятивного стресу в органах щурів-пухлиноносій [15]. Чисельні дослідження [18,34] показали, що в резистентних ракових клітинах до дії різноманітних зазвичай ефективних протиракових заходів (інтерлейкіну-1, фактору некрозу пухлин, цисплатину, іонізуючої радіації та ін.) відбувається оверекспресія ізоформ СОД [31,35,40,45], а супероксид-аніону відводилася одна з провідних функцій у формуванні резистентності. Отримані нами дані підтверджують ці положення та підкреслюють важливість подальших досліджень у цьому напрямку.

Відомо, що при онкологічних захворюваннях спостерігаються системні порушення обміну ліпідів, які відбуваються в першу чергу на рівні загальних ліпідів [21,24,36,37,41]. У наших попередніх дослідженнях, зокрема, було показано, що в крові щурів-пухлиноносій за розвитку звичайної КГ кількість ліпідів плазми крові збільшується у 6 разів, що свідчить про виникнення гіперліпідемії. Введення кластерних сполук Ренію призводило до зниження кількості сумарних ліпідів плазми крові у середньому вдвічі [17].

За розвитку резистентної пухлини спостерігалось збільшення вмісту ЗЛ у 2,8 разів порівняно з контролем (**рис. 2**).

Введення І сприяло зниженню рівня загальних ліпідів у 5,2 рази за розвитку КГ, а за РКГ – 1,4 рази порівняно з відповідними групами пухлиноносійми. Отже, як і при окисному стресі, введення І більш активно знижувало рівень загальних ліпідів за розвитку звичайного штаму КГ.

Введення системи призводило до зниження рівня загальних ліпідів при розвитку КГ у 16 разів, а РКГ – 2,2 рази. Застосування системи Реній-Платина призводило практично до нормалізації даного показника до рівня контрольного значення при розвитку експериментальних пухлинних моделей на фоні гальмування росту пухлин.

Отже, вперше показано коригуючий вплив сполук Ренію на рівень загальних ліпідів плазми крові у щурів з резистентною карциномою Герена. Здатність сполук Ренію, як індивідуально, так і у системі, впливати на стан ліпідного обміну, вірогідно пов'язана з антиоксидантною активністю сполук, яка обумовлена наявністю почверного зв'язку. Адже жирні кислоти є мішенню дії вільних радикалів. Так досліджувався вплив антиоксидантів на онкогенез та ліпідний обмін та було показано їх здатність гальмувати ріст пухлини та впливати на ліпідний спектр крові [5]. Також завдяки гідрофобному радикалу сполуки Ренію здатні взаємодіяти з фосfolіпідами мембран, а отже мембраностабілізуючі властивості цих сполук можуть сприяти нормалізації вмісту загальних ліпідів крові. Слід відмітити, що незважаючи на гальмування росту резистентної карциноми Герена, зменшення продуктів перекисного окиснення ліпідів, введення досліджуваних препаратів було менш ефективним стосовно впливу на концентрацію загальних ліпідів у плазмі крові щурів з резистентним штамом порівняно зі звичайною карциномою. Це викликано тим, що резистентні клітини набувають нових властивостей, що відображається і на біохімічних характеристиках організму пухлиноносій, зокрема, зміні функціонування ферментативної антиоксидантної системи захисту крові, що обумовлює можливість сполук Ренію з різною інтенсивністю гасити явище гіперліпідемії за умов звичайної та резистентної карциноми.

Висновки. Отже, показано здатність системи Реній-Платина гальмувати ріст пухлини, її позитивний вплив на систему червоної крові, систему антиоксидантного захисту крові, антирадикальні властивості, а також коригуючий вплив на рівень загальних ліпідів за умов розвитку резистентної карциноми Герена.

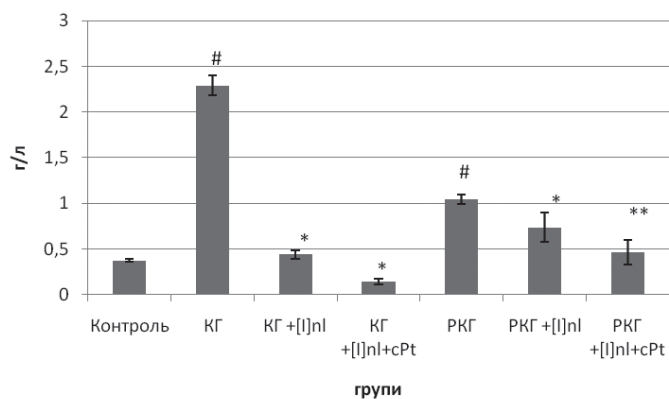


Рис. 2. Вміст загальних ліпідів (г/л), в плазмі експериментальних тварин, (n=8).

Примітка: # – достовірна різниця порівняно з групою контроль, p<0,05; * – достовірна різниця порівняно з групою з КГ, p<0,05; ** – достовірна різниця порівняно з групою з РКГ, p<0,05.

Таблиця 2.

Вміст ТБК-активних сполук (мкмоль/л) в плазмі та еритроцитах, ступінь гемолізу еритроцитів (%) експериментальних тварин, (n=8)

Групи	Вміст ТБК-активних сполук (мкмоль/л)		Ступінь гемолізу, %
	Плазма	Еритроцити	
Контроль	6,25±0,31	6,28±0,31	7,94±0,39
КГ	52,88±2,64	28,44±1,42 [#]	62,00±3,10 [#]
КГ+[I]nl	17,5±2,00 [*]	14,10±1,72 [*]	28,54±1,38 [*]
КГ+[I]nl+cPt	9,61±3,79 [*]	37,95±3,56	21,00±1,75 [*]
РКГ	18,50±0,92 [#]	20,14±1,01	26,14±1,31
РКГ+[I]nl	11,53±0,57 ^{**}	17,94±0,96	14,26±4,43
РКГ+[I]nl+cPt	8,65±0,43 ^{**}	8,97±0,45 ^{**}	9,57±0,47 ^{**}

Примітка: [#] – достовірна різниця порівняно з групою контроль, p<0,05; ^{*} – достовірна різниця порівняно з групою з КГ, p<0,05; ^{**} – достовірна різниця порівняно з групою з РКГ, p<0,05.

на. Вперше показано різний процес функціонування ферментативної антиоксидантної системи захисту в крові шурів-пухлиноносіїв за розвитку звичайної і резистентної до цисплатину карциноми Герена та підтверджено провідну роль супероксид-аніону у формуванні хеміорезистентності ракових клітин.

Література

1. Андреева Л.И. Модификация метода определения перекисей липидов в тесте с тиобарбитуровой кислотой / Л.И. Андреева, Л.А. Кожемякин, А.А. Кишкун // Лаб. дело. – 1988. – № 2. – С. 41-43.
2. Бабій С.О. Зміни стану нирок шурів за розвитку карциноми Герена та застосування цитостатиків / С.О. Бабій, Т.О. Лоскутова, Н.І. Штеменко // Укр. біохім. журн. – 2012. – № 3. – С. 63-71.
3. Воронкова Ю.С. Антиоксидантні властивості кластерних сполук Ренію та їх вплив на еритропоез шурів з карциномою Герена / Ю.С. Воронкова, С.О. Бабій, Л.В. Іванська [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2015. – № 1. – С. 99-108.
4. Воронкова Ю.С. Характеристика анемічного та гіпоглікемічного стану крові при розвитку карциноми Герена та застосуванні цисплатину / Ю.С. Воронкова, О.Д. Скорик, Н.І. Штеменко // Медична хімія. – 2012. – № 2. – С. 18-24.
5. Гидранович А.В. Липидный обмен и рак молочной железы. Влияние витаминотерапии / А.В. Гидранович // Новости хирургии. – 2007. – № 1. – С. 93-102.
6. Горожанская Э.Г. Свободнорадикальное окисление и механизмы антиоксидантной защиты в нормальной клетке и при опухолевых заболеваниях: лекция / Э.Г. Горожанская // Клиническая лабораторная диагностика. – 2010. – № 6. – С. 28-44.
7. Грабовська О.І. Інтенсивність оксидативного стресу крові шурів за розвитку карциноми Герена та введення цисплатину / О.І. Грабовська, С.В. Кириченко, Н.І. Штеменко // Медична хімія. – 2014. – № 2. – С. 42-46.
8. Зорькіна А.В. Модифікація протипухлевої терапії антиоксидантними препаратами в експерименті / А.В. Зорькіна, П.І. Скопин // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 1. – С. 34-39.
9. Зупанец І.А. Клиническая лабораторная диагностика: методы исследования: Учеб. пособие для студентов спец. «Фармация», «Клиническая фармация», «Лабораторная диагностика» вузов / И.А. Зупанец, С.В. Мисюрева, В.В. Прописнова [и др.]. – Харьков, 2005. – 200 с.
10. Івчук В.В. Вплив протипухлинної системи реній-платина на біохімічний стан печінки / В.В. Івчук, Т.М. Полішко, О.А. Голіченко [та ін.] // Укр. біохім. журн. – 2011. – № 83. – С. 76-84.
11. Комышников В.С. Клинико-химическая лабораторная диагностика. Справочник. Том II / В.С. Комышников. – Минск, 2003. – 463 с.
12. Королюк М.Л. Метод определения активности каталазы / М.Л. Королюк, И.Г. Иванова [и др.] // Лаб дело. – 1988. – № 1. – С. 16-18.
13. Костюк В.А. Простой и чувствительный метод определения супероксиддисмутазы, основанный на реакции окисления кверцетина / В.А. Костюк, А.И. Потапович, Ж.В. Ковалева // Вопросы мед. химии. – 1990. – № 2. – С. 88-90.
14. Кулик Г.И. Липосомальные препараты: путь к преодолению лекарственной устойчивости к цисплатину / Г.И. Кулик, В.М. Пивнюк, М.М. Носко // Онкология. – 2009. – № 1. – С. 76-80.
15. Леус І.В. Активність супероксиддисмутазы та інтенсивність оксидативного стресу при застосуванні кластерних сполук Ренію з алькільними лігандами як протипухлинних засобів: автореф. дис. к-та біол. наук: 03.00.04. / І.В. Леус. – Київ, 2012. – 21 с.
16. Леус І.В. Антиоксидантна і протипухлинна активність та механізм дії дикарбоксилатів диренію у тварин із карциномою Герена / І.В. Леус, К.Л. Шамелашвили, О.Д. Скорик [та ін.] // Український біохімічний журнал. – 2012. – № 3. – С. 87-96.

Таблиця 3.

Активність ферментів антиоксидантного захисту еритроцитів експериментальних тварин (у % до контролю), (n=8)

Групи	СОД	Кат	ГП
Контроль	100	100	100
КГ	85,92±5,20 [#]	41,08±2,05 [#]	50,18±5,34 [#]
КГ+[I]nl	294,00±10,24 ^{*#}	90,46±5,02 ^{*#}	70,32±3,52 ^{*#}
КГ+[I]nl+cPt	280,15±7,56 ^{*#}	68,14±3,26 ^{*#}	72,18±3,6 ^{*#}
РКГ	500,24±50,34 ^{*#}	139,98±7,10 ^{*#}	62,14±3,16 ^{*#}
РКГ+[I]nl	943,88±47,19 ^{*##}	398,69±19,93 ^{*##}	39,16±1,96 ^{*##}
РКГ+[I]nl+cPt	1383,22±69,16 ^{*##}	80,80±4,04 ^{*##}	40,94±2,05 ^{*##}

Примітка: [#] – достовірна різниця порівняно з групою контроль, p<0,05; ^{*} – достовірна різниця порівняно з групою з КГ, p<0,05; ^{**} – достовірна різниця порівняно з групою з РКГ, p<0,05.

Перспективи подальших досліджень. Таким чином, вивчення рівня загальних ліпідів та показників системи антиоксидантного захисту за умов канцерогенезу може бути ефективним для оцінки резистентності пухлини до антиканцерогенних препаратів, а подальше дослідження властивостей сполук Ренію і системи Реній-Платина є перспективним для розробки нових протипухлинних сполук та пошуку нових шляхів подолання резистентності пухлинних клітин.

17. Ніколенко О.І. Вміст загальних ліпідів крові щурів при розвитку пухлини та застосуванні антиканцерогенних препаратів / О.І. Ніколенко, С.В. Кириченко, Н.І. Штеменко // Вісник Львівського університету. Серія біологічна. – 2014. — № 65. – С. 71-76.
18. Новицкий В.В. Молекулярные нарушения мембраны эритроцитов при патологии разного генеза являются типовой реакцией организма: контуры проблемы / В.В. Новицкий, Н.В. Рязанцева, Е.А. Степовая [и др.] // Бюллетень сибирской медицины. – 2006. – № 2. – С. 62-69.
19. Носко М.М. Сравнение противоопухолевой активности цисплатина в свободной и липосомальной формах в эксперименте / М.М. Носко // Український медичний альманах. — 2008. — № 5. — С. 114-115.
20. Раецька Я.Б. Стан антиоксидантної системи і процесів ПОЛ при злоякісному рості у щурів з резистентною формою карциноми Герена за умов введення «Грінізація Грін Р» / Я.Б. Раецька // Фізика живого. — 2011. — № 2. — С. 44-47.
21. Симонова Л.И. Липидный статус у больных раком молочной железы I-II стадии / Л.И. Симонова, В.З. Гертман, С.Н. Пушкар // Онкология. – 2002. – № 3. – С. 236-237.
22. Тимофеевский А.Д. Модели и методы экспериментальной онкологии / А.Д. Тимофеевский. — М: Медгиз, 1960. — 245 с.
23. Хіміч М.В. Вплив препарату «Грінізація Грін Р» на злоякісний ріст у щурів з карциномою Герена, а також з резистентною формою карциноми Герена / М.В. Хіміч, Я.Б. Раецька, Є.А. Строцька [та ін.] // Фізика живого. – 2011. — № 2. — С. 35-38.
24. Abu-Bedair F.Ah. Serum lipids and tissue DNA content in Egyptian Female Breast / F.Ah. Abu-Bedair, B.Ah. El-Gamal, N. Ali Ibrahim, Ab.An. El-Aaser // Cancer Patients Jpn J Clin Oncol. — 2003. — № 33 (6). — P. 278-282.
25. Bakan E. Nitric oxide levels and lipid peroxidation in plasma of patients with gastric cancer / E. Bakan, S. Taysi, M.F. Polat [et al.] // Jpn J Clin Oncol. – 2002. — № 32 (5). — P. 162-166.
26. Barrera G. Oxidative stress and lipid peroxidation products in cancer progression and therapy / G. Barrera // Oncology. – 2012. — [Електронний ресурс] – Режим доступу до ресурсу: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23119185>.
27. Brabec V. Molecular aspects of resistance to antitumor platinum drugs / V. Brabec, J. Kasparkova // Drug Resistance Updates. – 2002. — № 5. — P. 147-161.
28. Claudio R. Lipid metabolism in cancer / R. Claudio, S. Schulze, A. Schulze // FEBS Journal. — 2012. – № 279. — P. 2610-2623.
29. Cust An.E. Metabolic syndrome, plasma lipid, lipoprotein and glucose levels, and endometrial cancer risk in the European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition (EPIC) / An.E. Cust, R. Kaaks, Ch. Friedenreich [et al.] // Endocrine-Related Cancer. – 2007. – № 14. – P. 755-767.
30. Friedewald W.T. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge / W.T. Friedewald, R.I. Levy, D.S. Fredrickson // Clin Chem. – 1972. — № 18. — P. 499-502.
31. Fujii J. Induces manganese-superoxide dismutase in tumor necrosis factor-resistant cells / J. Fujii, N. Taniguch, Es. Phorbol // The journal of biological chemistry. – 1991. – № 266. – P. 23142-23144.
32. Giordano A. Skeletal muscle metabolism in physiology and in cancer disease / A. Giordano, M. Calvani, O. Petillo, M. Carteni // Journal of Cellular Biochemistry. – 2003. — № 90. — P. 170-186.
33. Hellberg V. Cisplatin and xaliplatin Toxicity: importance of cochlear kinetics as a determinant for ototoxicity / V. Hellberg, I. Wallin, S. Eriksson, E. Hernlund [et al.] // JNCI. – 2009. — № 101. — P. 37-47.
34. Jose M.M. Chemical and biological activity of free radical «scavengers» in allergic diseases / M.M. Jose, C. Perez-Gomez, M. Blanca // Clinica Chimica Acta. – 2000. — № 296. — P. 1-15.
35. Karube-Harada A. Induction of manganese superoxide dismutase by tumour necrosis factor- α in human endometrial stromal cells / A. Karube-Harada, N. Sugino, S. Kashida [et al.] // Molecular human reproduction. — 2001. – Vol. 7. – P. 1065-1072.
36. Kamal Eldin A.A. The role of developing breast cancer in alteration of serum lipid profile / A.A. Kamal Eldin, K.H. Ikhlas, A.S. Isam // Journal of Research in Medical Sciences. – 2012. – Vol. 17 (6). — P. 562-565.
37. Kamath A. Risk factors, lipid profile, and histopathological study of oral cancers in Kolar district: A case-control study / A. Kamath, K.N. Shashidhar, H. Anantharamaiah [et al.] // Journal of cancer research and therapeutics. – 2014. – Vol. 10 (1). — P. 171-175.
38. Meerson F.Z. Effect of chronic haemolytic anemia on heart contractile function and increase of its resistance to hypoxia / F.Z. Meerson, M.E. Evstigneeva, E.E. Ustinova // Pat. Physiol. and Exp Therap. — 1983. — № 5. — P. 25-29.
39. Port G.Z. Biochemical nutritional profile of liver cirrhosis patients with hepatocellular carcinoma / G.Z. Port, K. Oliveira, J. Soldera, C.V. Tovo // Arq. Gastroenterol. — 2014. — Vol. 51 (1). — P. 10-15.
40. Smita M. Oxidative stress and antioxidant status in cervical cancer patients / M. Smita, K. Naidu, A.N. Suryakar [et al.] // Indian journal of Clinical Biochemistry. – 2007. — Vol. 22 (2). — P. 140-144.
41. Rysman E. De novo lipogenesis protects cancer cells from free radicals and chemotherapeutics by promoting membrane lipid saturation / E. Rysman, K. Brusselmans, K. Scheys [et al.] // Cancer Res. – 2010. – Vol. 70. — P. 8117-8126.
42. Shtemenko N.I. Synthesis, X-ray structure, interactions with DNA, remarkable in vivo tumor growth suppression and nephroprotective activity of cis-tetrachloro-dipivalato dirhenium(III) / N.I. Shtemenko, S.A. Babyi, H.T. Chifotides [et al.] // J of Inorg Chem. – 2013. – Vol. 129. — P. 127-134.
43. Shtemenko N.I. Dichlorotetra-m-isobutiratodirhenium (III): Enhancement of cisplatin action and RBC-stabilizing properties / N.I. Shtemenko, P. Collery, A.V. Shtemenko // Anticancer Research. — 2007. — Vol. 27, № 4. — P. 2487-2492.
44. Shtemenko N.I. Liposomal forms of rhenium cluster compounds: enhancement of biological activity / N.I. Shtemenko, O.V. Berzenina, D.E. Yegorova, A.V. Shtemenko // Chemistry and Biodiversity. – 2008. – Vol. 15. — P. 1660-1667.
45. Svensk A. Differential Expression of Superoxide Dismutases in Lung Cancer / A. Svensk, Y. Soini, P. Pddkcc [et al.] // Am J Clin Pathol. – 2004. – № 122. — P. 395-404.
46. Todor I.N. The lipid content of cisplatin — and docxorubicin resistant MCF-7 human breast cancer cells / I.N. Todor, N.Yu. Lukyanova, V.F. Chekhun // Experimental Oncology. — 2012. – Vol. 34. — P. 97-100.

УДК 546.719+577.125.8+616.006.6

БІОХІМІЧНІ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРОВІ ЩУРІВ З РЕЗИСТЕНТНОЮ КАРЦИНОМОЮ ГЕРЕНА ЗА ВВЕДЕННЯ ПРОТИПУХЛИННОЇ СИСТЕМИ РЕНІЙ-ПЛАТИНА

Грабовська О. І., Скорик О. Д., Шамелашвілі К. Л., Штеменко О. В., Штеменко Н. І.

Резюме. Було досліджено вплив кластерних сполук Ренію та протипухлинної системи Реній-Платина на розвиток резистентної карциноми Герена і біохімічні показники крові щурів-пухлиноносіїв та порівняно їх з

такими для щурів із звичайною карциномою Герена. Показано позитивний вплив системи Реній-Платина на систему червоної крові на фоні гальмування росту пухлини в обох експериментальних моделях пухлинного росту. Також показано, що система Реній-Платина знижує інтенсивність вільнорадикальних процесів як при розвитку звичайної пухлини, так і резистентного штаму. Вперше показано різний процес функціонування ферментативної антиоксидантної системи захисту в крові щурів-пухлиноносіїв за розвитку звичайної і резистентної до цисплатину карциноми Герена та підтверджено провідну роль супероксид-аніону у формуванні хеміорезистентності ракових клітин. Виявлено коригуючий вплив сполук Ренію на рівень загальних ліпідів, який був більш виражений за умов звичайної пухлини.

Ключові слова: карцинома Герена, резистентність, еритроцити, загальні ліпіди крові, система антиоксидантного захисту, сполуки Ренію.

УДК 546.719+577.125.8+616.006.6

БИОХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ КРОВИ КРЫС С РЕЗИСТЕНТНОЙ КАРЦИНОМОЙ ГЕРЕНА ПРИ ВВЕДЕНИИ ПРОТИВООПУХОЛЕВОЙ СИСТЕМЫ РЕНИЙ-ПЛАТИНА

Грабовская Е. И., Скорик Е. Д., Шамелашвили К. Л., Штеменко А. В., Штеменко Н. И.

Резюме. Было исследовано влияние кластерных соединений Рения и противоопухолевой системы Рений-Платина на развитие резистентной карциномы Герена и биохимические показатели крови крыс-опухоленосителей и проведено сравнение этих показателей с обычной карциномой Герена. Показано положительное влияние системы Рений-Платина на систему красной крови на фоне торможения роста опухоли в обеих экспериментальных моделях опухолевого роста. Также показано, что система Рений-Платина снижает интенсивность свободнорадикальных процессов как при развитии обычной опухоли, так и резистентного штамма. Впервые показано разный процесс функционирования ферментативной антиоксидантной системы защиты в крови крыс-опухоленосителей при развитии обычной и резистентной к цисплатину карциномы Герена и подтверждено ведущую роль супероксид-аниона в формировании хеміорезистентности раковых клеток. Виявлено корректирующее воздействие соединений рения на уровень общих липидов, который был более выражен в условиях обычной опухоли.

Ключевые слова: карцинома Герена, резистентность, эритроциты, общие липиды крови, система антиоксидантной защиты, соединения Рения.

UDC 546.719+577.125.8+616.006.6

BIOCHEMICAL CHARACTERISTICS OF BLOOD OF RATS WITH RESISTANT GUERIN CARCINOMA AT INTRODUCTION OF RHENIUM-PLATINUM ANTITUMOR SYSTEM

Grabovska O., Skoryk O., Shamelashvili K., Shtemenko O., Shtemenko N.

Abstract. Our previous studies have shown that the use of liposomal form of cisplatin was much more effective inhibition of tumor resistant than ordinary. It is also known that administration of liposomal drugs may be one way to overcome the resistance of tumors. The intensity of lipid peroxidation in plasma is a common indicator to determine the level of oxidative stress of the organism. It is very important to determine the activity of antioxidant enzymes of erythrocyte, because these biochemical characteristics reflect the level of hypoxic damage of the organism by the tumor growth. The phenomenon hyperlipidemia is also an important metabolic markers of tumor. Since the introduction of cluster rhenium compounds were effective means to inhibit ordinary Guerin carcinoma, especially with cisplatin (Platinum-Rhenium system), it was interesting to explore the impact of these compounds on the growth and biochemical parameters of the resistant Guerin carcinoma.

Aim of the research was to investigate the impact the introduction of cluster rhenium compounds in the nanoliposomal form separately and together with cisplatin for the development of resistant Guerin carcinoma and biochemical parameters of erythrocytes of rat with resistant tumor and compare them with those for rats with ordinary Guerin carcinoma.

Object and methods of research. Experiments were carried out on rats of Wistar line. 7 groups of animals were used. In this work was studied the compound – cis-Re₂(i-C₃H₇COO)₂Cl₄ – I. Tumor transplantation was performed by subcutaneous injection of 20% Guerin's carcinoma cell suspension in the thigh area. A single injection of cisplatin at a dose of 8 mg/kg was made on the 9th day after tumor inoculation. The introduce of preparations in liposomal forms in dose of 7 μM/kg of the rhenium compound or rhenium-platinum systems started on the 3rd day after inoculation of tumor cells. It was measured the volume of tumors, indexes of antioxidant defense system, the level of total lipid in blood of rats.

Research results and discussion. It was investigated the influence of cluster Rhenium compounds in the nanoliposom form separately and together with cisplatin for the growth of resistant Guerin carcinoma and biochemical parameters of blood of rats with tumor and compared them with those of rats with Guerin carcinoma. It was shown positive influence of Platinum-Rhenium system on red blood cells with the inhibition of tumor growth in both experimental models of tumor growth. It is also observed that the system Rhenium-Platinum reduces the intensity of free radical processes at the development of tumor ordinary and resistant strains. The introduction of cisplatin and rhenium cluster compounds resulted to normalization of the activity of antioxidant enzymes under the development of resistant tumor and Guerin carcinoma, except for SOD. With the development of resistant tumor

observed increase of the level of total lipid by 2,8 times compared to the control. It was obtained the corrective action of Rhenium compounds on the level of total lipids, which was more pronounced in the case of ordinary carcinoma.

Conclusions. Thus, it was shown the anticancer, antiradical properties of the Rhenium-Platinum system and its corrective impact on the level of total lipid in blood during the development of resistant Guerin carcinoma. For the first time shows the different processes functioning enzymatic antioxidant defense system in the blood of rats of ordinary tumor and cisplatin-resistant Guerin carcinoma and confirmed the leading role of superoxide anion in the formation of himioresistance of cancer cells.

Prospects for further research. Further study of the properties of Rhenium compounds and systems Rhenium-Platinum is promising for development of new anticancer compounds and finding new ways to overcome resistance tumor cells.

Keywords: Guerin carcinoma, resistance, erythrocytes, total lipids of blood, antioxidant defense system, Rhenium compounds.

Рецензент – проф. Непорада К. С.
Стаття надійшла 10.02.2017 року

© Данилець Р. О., Горбань Л. В., Гавриш І. Т., Григоренко В. М., Клепко А. В.

УДК 616.65-006.6-072.1-089

¹Данилець Р. О., ²Горбань Л. В., ³Гавриш І. Т., ¹Григоренко В. М.,
²Клепко А. В.

АНАЛІЗ ПРОГНОСТИЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ [-2]ПРОПСА ДЛЯ ДИФЕРЕНЦІЙНОЇ ДІАГНОСТИКИ ДОБРОЯКІСНИХ ТА ЗЛОЯКІСНИХ ПУХЛИН ПЕРЕДМІХУРОВОЇ ЗАЛОЗИ

¹ДУ «Інститут урології НАМН України» (м. Київ)

²ДУ «Національний науковий центр радіаційної
медицини НАМН України» (м. Київ)

³Івано-Франківський національний медичний університет
(м. Івано-Франківськ)

danylets@yandex.ru

Дослідження виконано в рамках науково-дослідної роботи лабораторії радіаційної біохімії Інституту експериментальної радіології ДУ «Національний науковий центр радіаційної медицини НАМН України» «Розробка прогностичних маркерів оцінки спермопродукуючої функції генеративного епітелію за умов дії іонізуючої радіації», № державної реєстрації 0115U002698.

Вступ. Рак передміхурової залози (РПЗ) на сьогоднішній день найбільш часто діагностується порівняно з іншими внутрішніми раками. До того ж, він посідає друге місце за ступенем летальності серед злоякісних новоутворень у чоловіків, поступаючись в цьому відношенні лише раку легень [16].

Діагностика раку передміхурової залози раніше, як правило, проводилась за допомогою пальцевого ректального обстеження передміхурової залози (ПЗ), у поєднанні з морфогістологічним аналізом біопсій. Головним недоліком такого підходу було те, що рак зазвичай вдавалось діагностувати лише на пізніх стадіях канцерогенезу, що часто супроводжувалось появою метастазів в пахових лімфовузлах та кістках тазу.

Ефективність діагностики вдалось дещо покращити шляхом застосування біомаркерів. За визначенням, біомаркером може слугувати будь-яка біомолекула, яку легко визначити у крові, сечі або іншій рідині людського організму і яка може вказувати на перебіг

нормального або патологічного процесу, появу певного фізіологічного стану організму або хвороби [11].

Першим біомаркером РПЗ, що міститься в плазмі крові, за своїми прогностичними показниками став фермент передміхурової залози – кисла фосфатаза (КФПЗ). Проте, КФПЗ має дуже низьку чутливість щодо ідентифікації локальної аденокарциноми без поширюючихся в організмі метастазів. Тому згодом цей тест був замінений більш надійним аналізом на основі простатоспецифічного антигену (ПСА) [18].

При розвитку пухлинного процесу порушується базальний шар клітин в секреторних залозах передміхурової залози, що дає змогу ПСА надходити безпосередньо в кровотечію, тим самим помітно збільшуючи свою концентрацію в крові. Між тим встановлено, що підвищення рівню ПСА не обов'язково вказує на злоякісну трансформацію, тому що розвиток доброякісної гіперплазії передміхурової залози (ДГПЗ) і простатиту теж супроводжуються аналогічними змінами в рівні ПСА. До того ж, на цей показник суттєво впливають також тип харчування, застосування ліків та зміна кліматичних умов [22]. Важливо зазначити, що вимірювання ПСА не дозволяє диференціювати стадії канцерогенезу, а також визначати агресивність пухлин та їх здатність до метастазування.

Доведено, що ПСА-тест може давати помилково позитивні та помилково негативні результати. Так,